

## ○研究代表者の研究歴等

### ・過去に所属した研究機関の履歴

- (1) 長崎大学医学部附属病院 (1988年6月～1989年5月)
- (2) 長崎大学大学院医学研究科 (1990年4月～1994年3月)
- (3) 米国立衛生研究所 (感染症アレルギー研究所; NIAID) (1995年1月～1998年5月)
- (4) 長崎大学医学部 (1998年7月～2007年3月)
- (5) 国立感染症研究所 生物活性物質部 (2007年4月～現在に至る)

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- (1) 河野 茂 教授 (長崎大学 医歯薬学総合研究科)
- (2) Dr. John E Bennett (Director of Infectious Diseases Training Program, Chief in Clinical Mycology Section /米国 National Institute of Allergy and Infectious Diseases)

### ・主な研究課題

呼吸器感染症と深在性真菌症の病態解明ならびに診断と治療方法に関する研究

### ・これまでの研究実績

発表論文名

- (1) *The effects of an hsp90 inhibitor on the paradoxical effect. Jpn J Infect Dis. 2009*
- (2) Identification and assignment of three disulfide bonds in mammalian leukocyte cell-derived chemotaxin2 by matrix-assisted laser desorption/ionization TOF mass spectrometry. *BioScience Trends. 2009*
- (3) *Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in comparison with amphotericin B, liposomal amphotericin B, and micafungin against murine pulmonary aspergillosis. Antimicrob Agents Chemother. 2008*
- (2) A case of pulmonary cryptococcosis followed by pleuritis in an apparently immunocompetent patient during fluconazole treatment. *Med Mycol. 2008*
- (3) Comparison of usefulness of plasma procalcitonin and C-reactive protein measurements for estimation of severity in adults with community-acquired pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis. 2008*
- (4) Single-cell observation of phagocytosis by human blood dendritic cells. 2008
- (5) A case of Legionella pneumophila pneumonia followed by invasive aspergillosis. *Jpn J Infect Dis. 2008*
- (6) The roles of the quorum-sensing system in the release of extracellular DNA, lipopolysaccharide, and membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa*. *Jpn J Infect Dis. 2008*
- (7) Pulmonary cryptococcosis presenting as endobronchial lesions in a patient under corticosteroid treatment. *Intern Med 2007*
- (8) Effects of specific neutrophil elastase inhibitor, sivelestat sodium hydrate, in murine model of severe pneumococcal pneumonia. *Exp Lung Res. 2007*
- (9) Leukocytoclastic vasculitis after pneumococcal pneumonia in an elderly adult. *Intern Med. 2007*
- (10) Clinical characteristics of pneumonia caused by beta-lactamase negative ampicillin resistant *Haemophilus influenzae* (BLNAR). *Scand J Infect Dis. 2007*
- (11) Fluconazole treatment is effective against a *Candida albicans* erg3/erg3 mutant in vivo despite in vitro resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2006.*

ほか 109 編。

政策提言 (寄与した指針またはガイドライン)

- (1) **一般医療従事者のための抗真菌薬使用ガイドライン. 日本化学療法学会. 2008**
- (2) 深在性真菌症の診断治療ガイドライン 改訂第2版. 真菌症フォーラムガイドライン作成委員会. 2007

知的財産権の取得及び申請状況

好アスペルギルス属マウスモノクローナル抗体申請準備中 (株アクトジェンと共同申請)

## COPD等における難治性感染症の 病態把握等に関する研究

研究代表者  
研究分担者

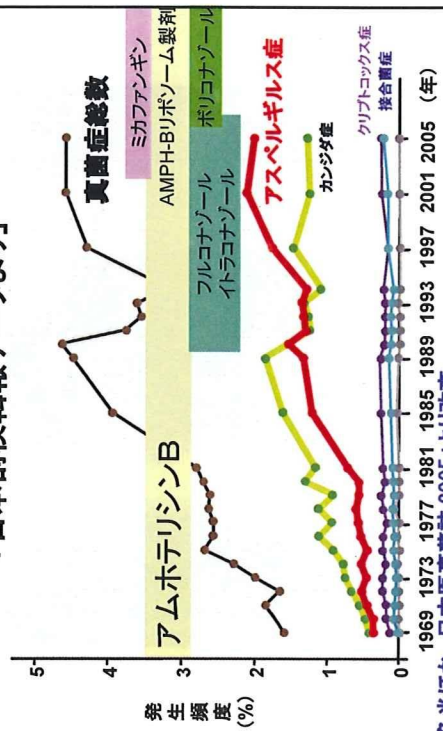
国立感染症研究所 生物活性物質部 宮崎義継  
国立病院機構 東名古医病院 小川寛二  
千葉大学 真菌学研究所 センター 亀井克彦  
長崎大学 感染症免疫学講座 河野 茂  
昭和大学 医学部 感染制御学 二本芳人  
国立感染症研究所 生物活性物質部 真菌症室 山越 智  
久留米大学 医学部 感染症学 渡邊 浩  
全国の52病院の担当医  
米国感染症学会 David Denning

研究協力者

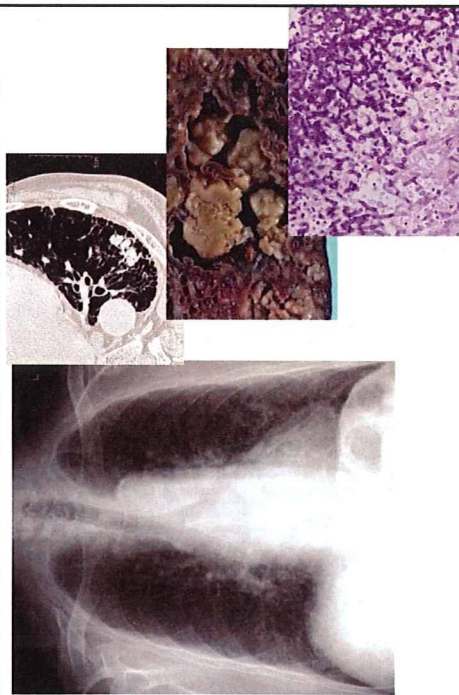
## 背景と目的

- 臨床的要請に基づき問題解決型の研究組織。
- 慢性の糸状菌感染症は、肺胞構造の破壊を有するCOPD等の患者等に発症するとされている。しかし、治療適応を判断する明確な診断指針が存在しないため、診断基準を作成する。
- COPD患者だけで500万人と推定される。
- わが国では内臓真菌症が増加している。(死亡20例に1例)
- 内臓真菌症に対する抗真菌薬開発と使用増。(年間約400億円)

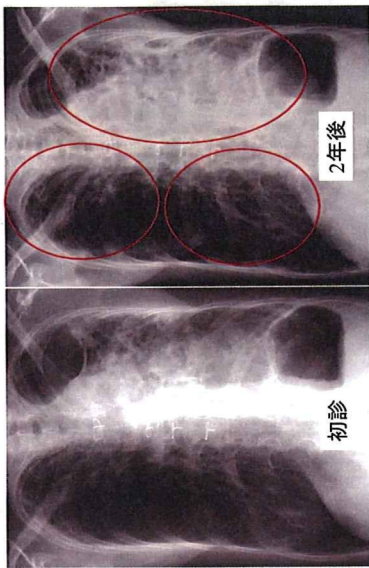
## 死亡時にみられる真菌症の推移 「日本剖検報告データより」



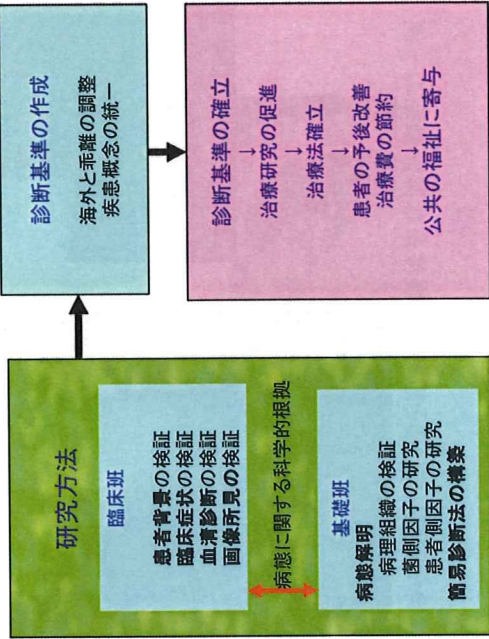
病勢が安定していると思われる慢性糸状菌感染症の一例



### 慢性肺アスペルギルス症胸部X線の変化



### 研究の流れ



### 臨床小班; 診断基準素案とそれに基づく臨床病態研究

診断基準の素案(1~4すべてに該当)

1. 症状: 感染症によると思われる発熱、咳嗽、喀痰、呼吸困難などの呼吸器症状がある。
2. 糸状菌関与の証拠として下記のいずれか: 気道由来検体で鏡検による菌糸成分確認、培養陽性、ガラクトマンナン陽性、沈降抗体陽性。
3. 画像所見: 胸部X線あるいはCTで、新たなconsolidationや空洞性陰影を確認。既存空洞の拡大や壁の肥厚が明らかない場合も含む。菌球のみみられる場合は除外。
4. 一般抗真菌薬無効: 3日間以上の注射用広域抗真菌薬投与で改善が不十分。

### 臨床小班; 臨床症状に関する結果 (比較研究)

項目	糸状菌 (%) n=57	細菌性肺炎 (%) n=199	p値
背景因子			
年齢	65.7 ± 12.6	54.2 ± 15.7	<0.0001
男性	47(71.9)	110(55.3)	0.03
症状			
咳嗽	55(91.2)	187(94.0)	NS
喀痰	51(89.5)	175(87.9)	NS
血痰	9(15.8)	0	<0.0001
発熱	37.7 ± 0.8	37.7 ± 0.8	NS
炎症反応			
CRP (mg/dl)	9.75 ± 7.40	11.04 ± 7.42	NS

### 臨床小班; 画像所見に関する結果

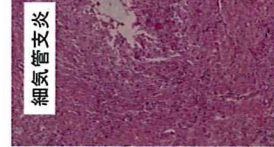
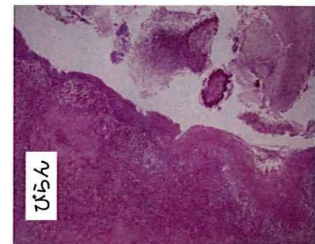
項目	実数	(%)	n=63
年齢	66.6 ± 12.4		
性別			
男性	46	(73.0)	
女性	17	(26.9)	
陰影の性状			
consolidation	58	(92.1)	
うちairbronchogram	23	(36.5)	
空洞・のうぼう	56	(88.8)	

### 臨床小班; 患者背景に関する結果

項目	実数	(%)	n=198
年齢	平均69.5		
性別			
男性	145	(73.2)	
女性	53	(26.8)	
基礎疾患			
肺結核後遺症	92	(46.5)	
COPD	34	(17.2)	
糖尿病	25	(12.6)	
その他	16	(8.0)	

### 基礎小班; 病理組織に関する結果

- 菌糸の侵襲は認めない
- 炎症部位は、びらん、炎症細胞浸潤、壊死巣がみられる
- 周辺の器質化肺炎像、細気管支炎像
- 肺動静脈瘻、真菌バイオフィームについては検討中



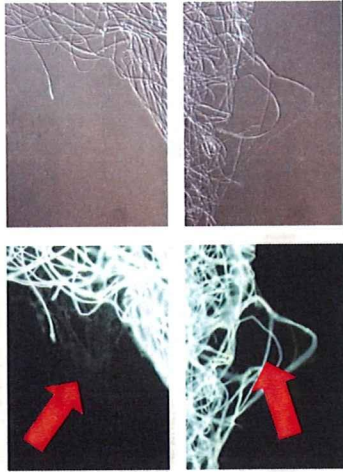
### 基礎小班; 素因に関する結果

- 遺伝的な背景  
マンノース受容体等のSNPs

	C649T	C868T	G1011A
		CCPA	ABPA
患者 #1	positive	none	positive
患者 #2	positive	none	positive
患者 #3	none	none	none
患者 #4	positive	none	positive
患者 #5	positive	none	positive
健常者 #1~5	none	none	none

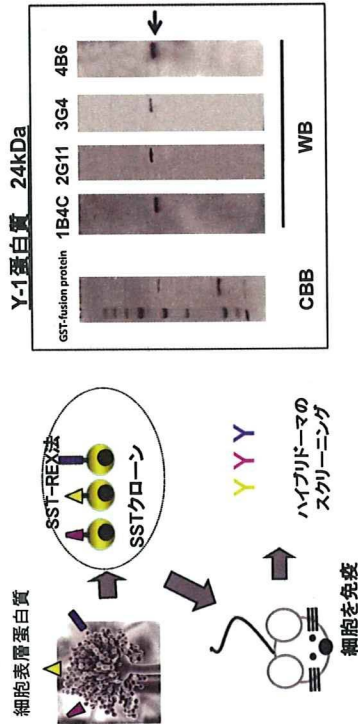
## 基礎小班； 難治化因子の結果

- fetuinの発見と、バイオフィルム様形態



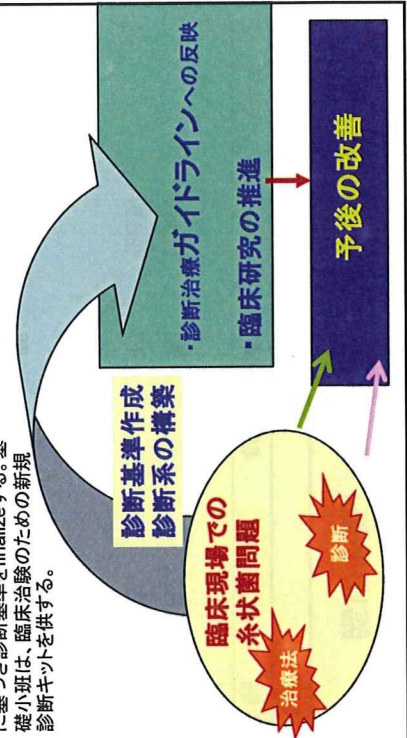
## 基礎小班； 疾患特異分子の検索、診断系構築

- *A. fumigatus*の細胞表面あるいは分泌分子の同定.
- 診断系の構築.



## 成果と来年度の予定

臨床小班は、今年度までの成果に基づき診断基準をfinalizeする。基礎小班は、臨床治験のための新規診断キットを提供する。



## 平成 21 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究課題番号：H20-新興 - 一般 - 013研究代表者：渡邊治雄**I. 研究の意義**

- 1) アジアを起点として発生する新興・再興感染症は後を絶たない。一国で発生した感染症の原因となる病原体は、SARS の事件が実証したように、ヒトあるいは物を介して瞬く間に世界中に拡散し、時には莫大なる被害をもたらす。
- 2) いつ発生するかまたはどのような状況で伝播するかわからない感染症に対しては、常時監視体制の強化が最も効果的防止法である。そのためには国を越えての協力体制の構築が求められている。
- 3) 本研究はアジアを中心として問題となっているいくつかの疾患を例として各国の感染症対策に関与する国立研究機関と国立感染症研究所とのラボネットワークを構築し、情報の交換を促進する。それにより、わが国への病原体の侵入あるいは拡散を未然に防止あるいは最小限に食い止めることができる。

**II. 研究の目的、期待される成果**

- 1) アジア各国の CDC 様機能を持つ国立研究機関との間で、アジアで蔓延している感染症の代表的なものとしてウィルス疾患としては高病原性鳥インフルエンザ、H1N1 新型インフルエンザ、デング熱、狂犬病等、原虫性疾患としてマラリア等、細菌性疾患として赤痢、コレラ、腸チフス等の下痢性疾患の感染症発生動向および病原体情報の交換、およびその解析を行う
- 2) 病原体検出法の標準化および共通のマニュアルの作成、開発した検査キットの配布を行い、病原体の検出感度を高める
- 3) 病原体の分子疫学的解析法の開発と標準化、それを用いた病原体遺伝情報のデータ集積を行い、共通の物差しで病原体の動向を把握する

**期待される成果**

各国の厚生省管轄下の研究機関とのネットワーク化を図ることにより、問題となる感染症の病原体の情報を迅速に共有できる様になり、アジアにおける感染症の制御およびわが国への感染症侵入阻止に貢献する。

**III. 2年間の研究成果**

(1)細菌チーム；主任研究者（渡邊治雄）、分担研究者（寺嶋、泉谷、伊豫田、森田、大澤、大西）  
アジア（韓国、中国、台湾、ベトナム、マレーシア、フィリピン、タイ、バングラデシュ、インド、オーストラリア、ニュージーランド）および米国 CDC 等の国立の感染症研究所との連携を図り、コレラ菌等の腸管系細菌のゲノム情報 (PFGE) に基づくデータベース化およびそのネットワーク

(Pulse-Net)の構築を行った(各国に研究委託金を渡し、各国の分離株の解析を依頼した)。アジア地域で現在流行しているコレラ菌は、古典型コレラ毒素を産生するエルトール型コレラ菌のハイブリッド型にシフトしてきており、それが臨床症状の悪化に参与している可能性が示唆された。他の分子疫学的解析法(MLVA)の検討を行い、赤痢菌での有用性を示した。

## (2) ウィルスチーム;

(1) デング熱等(研究分担者; 倉根、高崎、田島、林、高橋): 最近、デング熱流行地域での病原体診に用いられ始めているデングウイルス NS1 抗原 ELISA の感度をウイルス遺伝子検出検査(リアルタイム RT-PCR 法)と比較した。タイ患者血清を用いたウイルス分離によりこれまでに3株のチクングニヤウイルスを分離した。系統学的解析の結果いずれの分離株も現在アフリカおよびアジア地域で流行域を拡大している東・中央アフリカ型の遺伝子型に分類されることが示唆された。各国および世界で販されている日本脳炎 IgM 抗体検査法を評価した。また、WHO 西太平洋事務局が6月に開催したソウルにおける日本脳炎実験室診断実習コースに臨時アドバイザーとして参加し指導した。中国 CDC、韓国 CDC と日本脳炎 IgM 抗体検査法の統一化に関する会議をおこなった。

(2) 狂犬病(研究分担者; 山田、朴、井上): 狂犬病の簡易・迅速抗原検出を可能とする dRIT 法をフィリピンの野外検体を利用して検討を行った。狂犬病の簡易・迅速遺伝子検出を可能とする RT-LAMP 法と Real-time PCR 法の開発をベトナム NIHE 研究所の狂犬病ラボと行った。フィリピン、ベトナム、中国における狂犬病流行の実態と診断システムの課題等について当該国の狂犬病ラボ担当者とアジアの狂犬病国際会議と ASEAN Plus Three 会議において意見及び情報交換を行って、アジアで必要とされるラボラトリーネットワーク構築に必要な研究課題について議論した。

(3) インフルエンザ(研究分担者; 田代、小田切、板村等): 中国、台湾、韓国、モンゴル、シンガポール、ミャンマー、ラオス、シリア、グアムからの分離株の HA 遺伝子および NA 遺伝子の塩基配列の決定と系統樹解析を行い、A/H3N2 亜型ではこれらの抗原性変化は、東南アジア諸国がわが国より早く起る傾向がみられ、東南アジア諸国でのウイルス株サーベイランスが次シーズンの北半球諸国での流行予測をする上で、極めて重要な鍵を握ることが示唆された。2008年にミャンマー、ラオスで発生した高病原性 H5N1 鳥インフルエンザ分離株はクレード 2.3.4 に分類され、中国や東南アジア周辺国では、このグループが主流になっていることが示唆された。ブタインフルエンザウイルス由来の新型 A/H1N1 ウイルスの PCR 高感度診断系を開発し、そのマニュアルをアジア周辺諸国へ提供した。

(4) 麻疹・風疹(研究分担者; 駒瀬、牛島等): ラオス、ビエンチャン市の4つの小学校の児童の風疹抗体価、麻疹抗体価を測定した。約45%が風疹抗体陽性であり、95%以上が麻疹抗体陽性であった。

(3) 原虫チーム(分担研究者; 大前、田辺ら): アジア・アフリカのマラリア浸淫地から得られ

熱帯熱マラリア原虫集団の遺伝的多様性とその分布の定量的解析を非抗原タンパク遺伝子(*serca*,  $Ca^{2+}$ -ATPase; *ads1*, adenylosuccinate lyase)、表面抗原遺伝子(*mSP1*, merozoite surface protein 1; *csp*, circumsporozoite protein)のシーケンス(全 11.4 kb, 228 SNPs)を用いて行ったところ、各地域において遺伝的多様性は大きく異なり、マラリア獲得免疫やワクチン効果は一樣には現れないことが示唆された。1982年から1998年までのクロロキンとピリメサミン耐性遺伝子の遺伝子型を

アフリカからの輸入熱帯熱マラリアのサンプルから特定した結果、アフリカ独自の耐性株が1980年代に出現し、1990年代よりアジアの耐性株がアフリカに流入したと推定された。

#### IV. 22年度の課題

- (1) 開発した検査法の共有化をアジア諸国の研究機関と継続的に行う。野外で流行している株を利用した診断、検査、サーベイランス等の検証を行い、課題点等を明らかにする必要がある。
- (2) 病原体の変化を迅速に検知するためのゲノムベースのサーベイランスの強化を図る

#### V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) アジアのCDC様機能を持つ国立研究機関との相互交流は、お互いの国で発生する感染症および病原体の情報を迅速に交換し、国レベルでその制圧に協力体制を構築するために大きな貢献をする。
- (2) 新型インフルエンザ(H1N1)診断技術講習会の開催および検査試薬、陽性コントロールの配布をASEAN各国に行い、各国の新型インフルエンザ対策に役立てられた。
- (3) 輸入食品が原因と疑われる、国内の複数の赤痢菌食中毒の発生時に、PFGE及びMLVAによる遺伝子型別を行い、その共通性を明らかにすることができた。この事例解析を契機として菌株解析の重要性が認知され、各自治体への通知（「赤痢菌等の菌株の送付について」；健感発第1009001号、食安監発第1009002号）が行われた。

#### VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等) 原著英文：2009年度

1. Chiou, C-S., Watanabe, H., Wang, Y-W., Wang, W-L., Terajima, J., Thong, K-L., Cam, P-D, and Tung, S-K. Utility of multilocus variable-number repeat analysis as a molecular tool for phylogenetic study of *Shigella sonnei*. J. Clin. Microbiol. 47: 1149-1154. 2009.
2. Izumiya H., Tada Y, Ito K, Morita-Ishihara T, Ohnishi M., Terajima J., Watanabe H. Characterization of *Shigella sonnei* isolates from travel-associated cases in Japan. J Med Microbiol. 58:1486-91, 2009
3. Bazartseren Boldbaatar, Satoshi Inoue. Naoko Sugiura, Akira Noguchi, Jun Ryan C. Orbina, Catalino Demetria, Mary Elizabeth Miranda, and Akio Yamada. Rapid detection of rabies virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). Jpn. J. Infect. Dis. 62, 187-191, 2009\_
4. Saito-Nakano Y., Tanabe K., Kamei K, Iwagami M, Komaki-Yasuda K, Kawazu S, Kano S, Ohmae H. Endo T. Genetic evidence for *Plasmodium falciparum* resistance to chloroquine and pyrimethamine in Indochina and the Western Pacific between 1984 and 1998. *Am J. Trop. Med. Hyg.* (2008) 79:613-619.
5. Tomohiko Takasaki. Akira Kotaki, Chang-Kweng Lim, Shigeru Tajima. Tsutom Omatsu, Meng Ling Moi, Ichiro Kurane. Arbovirus zoonoses: the challenge of controlling an ever-present enemy. Journal of Disaster Reserch. 4(5) 322-328. (2009)
6. 新型インフルエンザ(H1N1)診断マニュアルは、WHOのHPにも還元された。



## VI. 概要図：アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

### 目的：

- 1) アジアの CDC（疾病制御センター）様機能を持つ研究機関と感染研との連携強化を図る。
- 2) アジアで流行している新興感染症（細菌性疾患；新型コレラ、新型腸炎ビブリオ、その他の腸管感染症。ウイルス性疾患；デング熱、麻疹、風疹、狂犬病、新型インフルエンザ。原虫；マラリアを対象）の正確な情報を得るためのゲノムに基づいた検査法の基盤を構築する。検査法の標準化、精度管理およびゲノム情報に基づいたデータベース化を推進する
- 3) 病原体伝播の迅速把握および阻止に役立てることができる

モデルケース；細菌、ウイルス、原虫等の対象病原体を選出し対応：

細菌(アジアで流行しているコレラ、腸チフス等の下痢性疾患)

ウイルス(アジアで問題となっているデング熱、狂犬病、インフルエンザ、麻疹等を対象)

原虫（マラリアを対象）

### 方法：

- ・ Asia-Pacific（中国、韓国、ベトナム、タイ、インドネシア、フィリピン、マレーシア、インド、バングラデシュ、オーストラリア、ニュージーランド、米国等を中心に）の CDC 様の国立の感染症研究機関との連携
- ・ ゲノムの多様性解析；各国で分離される病原体のゲノム構造を塩基配列に基づいて解析し、データベースの構築を行う（各国の機関に委託研究費を出し、各国の病原体解析を促進させる）
- ・ 迅速診断法の開発；ゲノムの多様性を利用して、迅速検出法の開発を行う（国内研究機関が中心に行う）
- ・ アジア諸国へ解析法、診断法の技術伝達、および精度管理、研修を行う（国内研究機関が中心に行う）

### 研究成果：

- ・ アジア（韓国、中国、台湾、ベトナム、マレーシア、フィリピン、タイ、バングラデシュ、インド、オーストラリア、ニュージーランド）および米国 CDC 等の国立の感染症研究所との連携を図り、コレラ菌等の腸管系細菌のゲノム情報(PFGE)に基づくデータベース化およびそのネットワーク(Pulse-Net)の構築を行った
- ・ デングウイルスおよびチクングニヤウイルスの NS1 抗原 ELISA の開発、診断技術を実施した。また、検査法に関する情報をタイ NIH に提供し、タイ南部に侵入したチクングニヤ熱診断に寄与した。
- ・ 狂犬病の簡易・迅速遺伝子検出を可能とする RT-LAMP 法を確立して、フィリピンで流行している野外の狂犬病ウイルス株に対して検出感度の検証を行った
- ・ ブタインフルエンザウイルス由来の新型 A/H1N1 ウイルスの PCR 高感度診断系を開発し、そのマニュアルをアジア周辺諸国へ提供した。
- ・ アジア・アフリカのマラリア浸淫地から得られた熱帯熱マラリア原虫集団の遺伝的多様性とその分布の定量的解析を行った。各地域において遺伝的多様性は大きく異なり、マラリア獲得免疫やワクチン効果は一様には現れないことが示唆された。

・過去に所属した研究機関の履歴 (研究代表者: 渡邊治雄)

- 1975-1980 群馬大学医学部医学科博士課程修了 (医学博士)  
 1980-1985 国立公衆衛生院衛生微生物学部研究員  
 1982-1984 ジュネーブ大学生化学教室  
 1985-1988 国立予防衛生研究所 (現: 国立感染症研究所) 細菌部第二室室長  
 1988- 現在 同研究所 細菌第一部部長  
 2004- 現在 同副所長  
 2005- 現在 東京大学教授大学院医学系研究科 (併任)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

橋本一 群馬大学教授, K. N. Timmis ジュネーブ大学教授, G. Nair インド国立コレラ感染症研究所所長

・主な研究課題

- 1) 腸内細菌のゲノムの多様性に基づいた分子疫学的手法の開発
- 2) 赤痢菌の細胞侵入性の分子メカニズムの解析; 宿主細胞との相互作用
- 3) 腸管出血性大腸菌の病原性遺伝子の発現調節機構の解明とその制御法の開発

・主な受賞歴: 昭和 61 年 3 月 日本細菌学会黒屋奨学賞; 平成 11 年 4 月日本感染症学会二木賞;  
 平成 17 年 10 月小島三郎記念文化賞; 平成 22 年 3 月 日本細菌学会浅川賞

・これまでの研究実績: (今までの英文原著論文数 256 編)

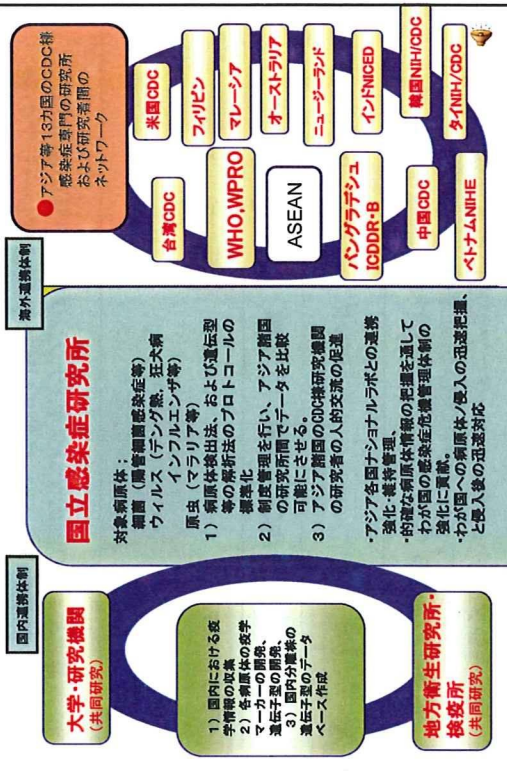
- 1) Mitobe, J., Tomoko Ishihara, Akira Ishihama and Haruo Watanabe. Involvement of RNA binding protein Hfq in the post-transcriptional regulation of *invE* gene expression of *Shigella sonnei*. J. Biol. Chem. 283:5738-5747. 2008.
- 2) Saitoh, T., Sunao Iyoda, Shouji Yamamoto, Yan Lu, Ken Shimuta, Makoto Ohnishi, Jun Terajima, and Haruo Watanabe. Transcription of enterohemolysin gene is positively regulated by GrIA, a global regulator encoded within the locus of enterocyte effacement in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 190:4822-4830. 2008.
- 3) Alam, M., Sultana, M., Nair, G. B., Siddique, A. K., Hasan, N. A., Sack, R. B., Sack, D. A., Ahmed, K. U., Sadique, A., Watanabe, H., Grim, C. J., Huq, A., and Colwell, R. R. Viable but non-culturable *Vibrio cholerae* O1 in biofilms in the aquatic environment and their role in cholera transmission. Pro. Natl. Acad. Scie: 104: 17801-17806. 2007.
- 4) Iyoda, S., Nobuo Koizumi, Hitomi Satou, Yan Lu, Takeshi Saitoh, Makoto Ohnishi, and Haruo Watanabe. The GrIR-GrIA regulatory system coordinately controls the expression of flagellar and Lee-encoded type III protein secretion systems in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 188: 5682-5692. 2006.
- 5) Miura, M., Jun Terajima, Hidemasa Izumiya, Jiro Mitobe, Teruya Komano and Haruo Watanabe. OspE2 of *Shigella sonnei* is required for the maintenance of cell architecture of bacteria-infected cells. Infect & Immun. 74: 2587-2595. 2006

## アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

( H20 - 新興 - 一般 - 013 )

- **研究の意義**
- アジアで新興・再興感染症が発生し、わが国に侵入する可能性が高い
- アジアで分離される病原体のゲノム情報のデータベースがない
- わが国が中心となりアジアの感染症研究機関との連携を図り、病原体情報ネットワークの構築を図る必要がある

## アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究



### 主な研究成果:

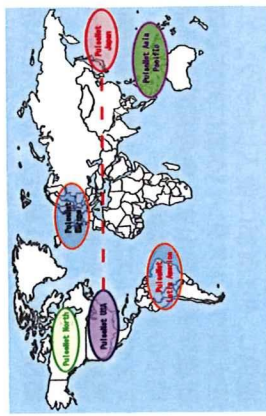
- 1) アジア(韓国、中国、台湾、ベトナム、マレーシア、フィリピン、タイ、バンガラデシュ、インド、オーストラリア、ニュージーランド)および米国CDC等の国立の感染症研究所との連携を図り、コラ菌等の腸管系細菌のゲノム情報(PFGE)に基づくデータベース化およびそのネットワーク(Pulse-Net)の構築を行った
- 2) デングウイルスおよびチクングニヤウイルスのNS1抗原ELISAの開発、診断技術を実施した。また、検査法に関する情報をタイNIHに提供し、タイ南部に侵入したチクングニヤ熱診断に寄与した。
- 3) 狂犬病ウイルススタンパク質に対する抗体を作成し、簡易に感染を組織学的に検出する免疫組織診断系を開発し、フィリピン等の流行地での利用を検討した
- 4) プタインフルエンザウイルス由来の新型A/H1N1ウイルスのPPCR高感度診断系を開発し、そのマニュアルをアジア周辺諸国へ提供した。
- 5) アジア・アフリカのマラリア浸淫地から得られた熱帯熱マラリア原虫集団の遺伝的多様性とその分布の定量的解析を行った。各地域において遺伝的多様性は大きく異なり、マラリア獲得免疫やワクチン効果は一概には現れないことが示唆された。

### 細菌関係:

## パルスネット・アジアパシフィック会議

- 1) 合同会議の開催: 2009年12月、タイ バンコック
- 2) 参加各国(国立感染症研究所、中国 CDC、韓国 NIH、香港 PHLC、フィリピン RITM、台湾 CDC、タイ NIH、マレーシア Malaysia大学、ベトナム NIHE、インド NICEID、バンガラデシュ ICDDR.B、オーストラリアメルボルン大学、ニュージーランド IESR、米国CDC: 14研究機関)
- 3) PFGE解析法の標準化、精度管理に関する研究報告
- 4) PFGE解析の研修コースに関する討論  
 ワークショップ、香港(Public Health Laboratory Center, PHLC)、PFGE解析に関する研修  
 PFGE解析ソフト(BioNumerics, Applied Maths社)使用による解析及びデータベース構築に関する研修
- 5) パルスネットアジアパシフィックのWebBoard設置の報告
- 6) 新規解析法の開発、評価、MLVA、  
 EHEC O157のvirulent cloneの国際比較

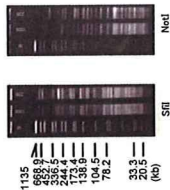
パルスネット・アジアパルスネットの構築



アジア地域における細菌性食品由来感染症対策に役立てる目的で、パルスネット・アジアパルスネットを構築しつつある。その他、米国CDCとの協力により、日本・韓国における下記の事例を察知した。

2009年事例：サイコロステーキの原因牛肉の汚染-米国CDCとのデータ比較

V. parahaemolyticus用標準化PFGE



1)パルスネット・アジアパルスネット参加国に

おいてV. parahaemolyticus用標準化PFGEプロトコルを作成した。新しいV3:KGプロローンの伝播。

2)V. choleraeの古典型毒素を持つエンテロトール型の新規コレラ菌のアジアにおける伝播

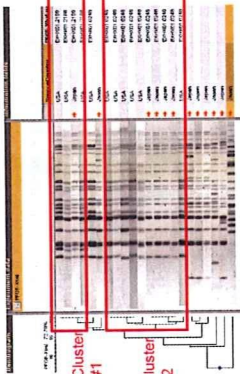


目的: デング熱、チクングニア等アジアで問題となる蚊媒介性感染症につき、アジア各国の研究機関とネットワークを構築し病原体検査法の標準化を行い、分子疫学的解析や病原体情報交換を促進する

- Dr. G. D. Liang (China CDC): 日本脳炎
- Dr. H. Huang (Taiwan CDC): デング熱
- Dr. Olveda (Philippines RITM): デング熱、ウイルス性出血熱
- Mrs. S. Anantapreecha (Thai NIH): デング熱、チクングニア
- Dr. K.B. Chua (Malaysia, The National Public Health Lab): デング熱、チクングニア
- Dr. M. Sudiro (Univ. Indonesia): デング熱

国内ステーキハウスチェーン店におけるEHEC O157による食中毒の発生と原因菌解析のための米国CDCとの協力

US matches to JPN steakhouse patterns- past 60 days



当該ステーキハウスチェーン店では、原材料に米国産・カナダ産の牛肉を使用。患者由来株のPFGEパターンをCDCに照会。

USDAの牛肉由来株で同一クラスターになるものがあったため、詳細に比較。CDCのデータベースで、PFGE (XbaI, BlnI)、MLVAの結果を照会。

結果 一致するO157株はなかった。

EHEC O157の患者由来株とUSDAの牛肉由来株のMLVAによる比較

Japanese patterns:	
Don:	10-9-13-4-8(7)-8-11-8
PepperLunch:	12-9-8-1-9-6-10-8
USDA pattern:	8-9-9-4-8-6-10-8

マレーシアのデング熱・チクングニア熱疑い患者血清におけるデングウイルス中和及び感染増強抗体の検討

共同研究: Dr K.B. Chua (Malaysia, The National Public Health Lab)

例	チクングニア			デング			PCR		
	中和抗体	Ig M	分離	PCR	分離	Ig M	NS1 Ag	D1	D3
デング	<10	-	-	-	-	+	-	-	+
チクングニア	<10	-	+	+	-	-	-	-	-

まとめ: 80例のデング熱・チクングニア熱疑い患者はチクングニア30例、デング熱31例であった。マレーシアの発熱患者にはデング熱とチクングニア熱が混在している。本法はマレーシアに技術移転予定である。

## 狂犬病；アジアの共同研究機関と主任研究者

- ベトナム： NIHE  
Dr. Kieu Anh (Head of Rabies Laboratory,  
Dept. Virol.)
- フィリピン： RITM  
Dr. Beatriz P. Quiambao (Project Chief)
- 中国： China CDC, Institute for Viral Disease Control and  
Prevention  
Dr. Tang Qing (Professor of Department of  
Encephalitis)



## (1) 狂犬病の迅速および早期診断法の検討

- 野外におけるdRII法を利用した簡易検査系の確立

- ① 脳のスタンブ標本の作製、風乾
- ② 固定
- ③ 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 処理 (10分)
- ④ 洗浄
- ⑤ ビオチン標識抗体 (10分)
- ⑥ 洗浄
- ⑦ Streptavidin-peroxidase complex (10分)
- ⑧ 洗浄
- ⑨ AEC 基質 (10分)
- ⑩ 洗浄
- ⑪ 対比染色 (ヘマトキシリン) (2分)

測定方法：アセトン (-20℃, 30分)

**AEC 基質**  
Streptavidin-peroxidase complex  
ビオチン標識抗体  
抗原

## (2) 簡易な抗体作成を利用した狂犬病の免疫組織診断系開発

- プラスミド免疫、卵黄抗体等の簡易抗体作成法の応用

免疫組織化学的検索のまとめ

- anti-rabbit
  - Nucleoprotein (N) NG-5
  - Phosphoprotein (P) P13-31
  - Glycoprotein (G) pcDNA-G
- anti-chicken
  - Nucleoprotein (N) NG-5 IgY
  - Phosphoprotein (P) P13-31 IgY
  - Vaccine IgY 5~10 IU/ml
  - Vaccine + Adjuvant IgY 0.5~1 IU/ml
  - Glycoprotein (G) G-F2 IgY 3~4, 9~10 IU/ml

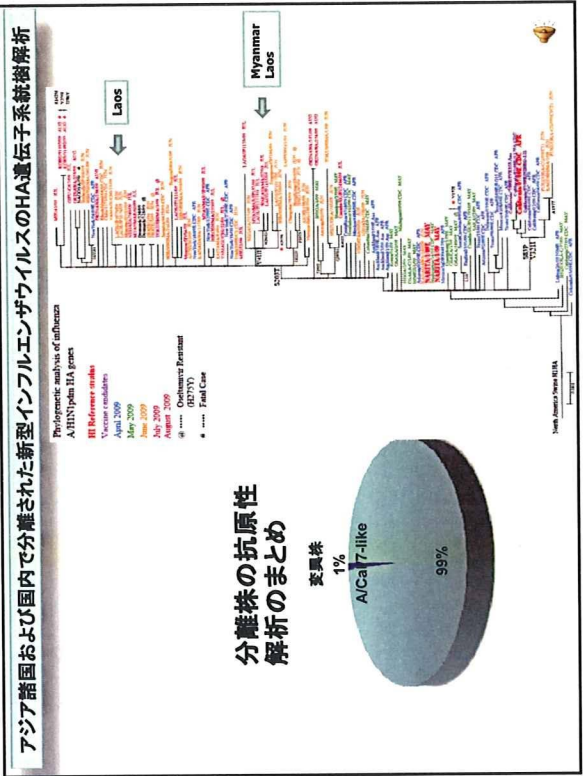
緑より染まる。黄色染まるが改良が必要。

## 東アジア諸国との連携による季節性および新型コロナウイルス感染症流行株の性状に関する研究

- ◆ 近隣諸国との連携により、季節性および新型コロナウイルス流行株の性状や薬剤耐性株の発生状況を詳細に調査し、その情報を連携国およびWHOと共有することで、それぞれの国、さらには世界のインフルエンザ対策に貢献する。
- ◆ 感染研からウイルスサーベイランスに必要な標準抗血清、培養細胞および研究技術を提供し、東アジア諸国のサーベイランス水準を欧米レベルまでに高める。
- ◆ 東アジア地域から分離されるインフルエンザウイルスから適正なワクチン株を供給できる協力ネットワークを維持する。

感染研で調査した2008-2009年に東アジア諸国で分離された抗インフルエンザ薬耐性株

Country	Total No. tested	EINI		EN2		Resistant (Outlier*)		Resistant (Outlier*)	
		#	Zanamivir	Osetamivir	#	Zanamivir	Osetamivir	#	Zanamivir
Japan	1739	1482(4)**	8*	1477	172	6*	0	83	0
China	75	57	1*	20	4	0	0	14	0
Korea	10	9	0	9	1	0	0	-	0
Laos***	9	9	0	9	-	0	0	-	0
Mongol	3	3	0	0	-	0	0	-	0
Taiwan	29	11	0	10	13	0	0	5	0
Myanmar	52	5	0	4	35	1*	0	12	0
Singapore	13	3	0	0	5	0	0	5	0
<b>Total</b>	<b>1930</b>	<b>1579</b>	<b>9*</b>	<b>1529</b>	<b>230</b>	<b>7*</b>	<b>0</b>	<b>121</b>	<b>0</b>



**目的** アジア、太平洋地域におけるマラリア制圧に向けた動きを加速し、日本の防衛にも役立つような研究ネットワークを形成。病原体遺伝子情報の共有、検査法の開発・評価や標準化をはかる。

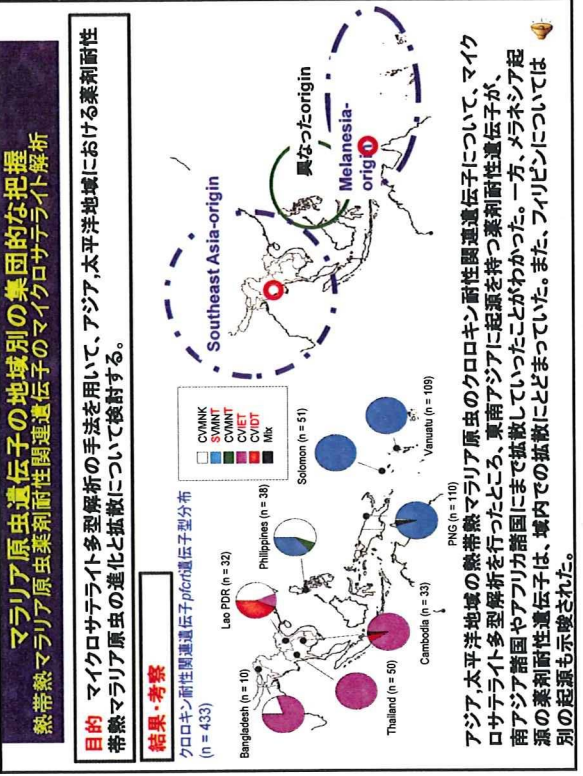
**アジア諸国の研究機関とのネットワークの形成**

三日熱マラリアネットワーク会議(2010年1月、WPRO, SEARO, China CDCとの共催、参加14か国)アジア、太平洋地域におけるマラリア制圧の障害となる三日熱マラリアの研究と対策の促進。Asian Pacific Malaria Elimination Network (APMEN)との連携・参加

**国内における研究組織の構成と課題**

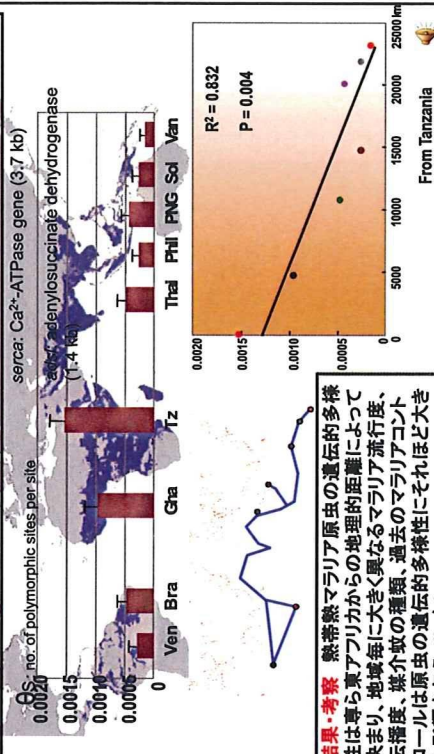
- 1 マラリア原虫遺伝子の地域別の集団的な把握  
分組: 中野由美子(感染症研) 田邊和祐(阪大微研), 協力: 美田敏宏(東京女子医大) マラリア原虫遺伝子の集団的な動き、特に薬剤耐性と関連した動きを、アフリカとアジア・太平洋地域、アジア・太平洋地域における大陸部と島嶼部で比較
- 2 マラリアの新しい疫学的指標やRapid assessment手法の開発と評価  
分組: 大前比呂恵(感染症研), 坪井敬文(愛媛大) 協力: 伊藤敏(愛知医大) 典型的な臨床症状を示さない例が多数をしめるマラリア遷移地(タイとソロモン諸島)で最近の疫学的変化を把握・モニタリングできる指標やRapid assessment手法の開発と評価を行う。
- 3 マラリア原虫などの主要病原体の媒介蚊の検査法の改良  
分組: 津田良夫(感染症研) 協力: 沢田京子(感染症研), 富麻孝子(琉球大), 比嘉良子(長崎大)

形態学的分類と遺伝学的分類の異同を整理し、標準化する。



## マラリア原虫遺伝子の地域別の集団的な把握 熱帯熱マラリア原虫遺伝的多様性の地理的分布

**目的** 熱帯熱マラリア原虫の *serca*, *adsl* といった遺伝子を用い、遺伝的多様性の地理分布に関する解析を行う。



**結果・考察** 熱帯熱マラリア原虫の遺伝的多様性は専ら東アフリカからの地理的距離によって決まり、地域毎に大きく異なるマラリア流行度、伝播度、媒介蚊の種類、過去のマラリアコントロールは原虫の遺伝的多様性にそれほど大きな影響を与えていない。

**今後の課題:**

- 1) 開発した検査法の共有化をアジア諸国の研究機関と継続的に行う。野外で流行している株を利用した診断、検査、サーベイランス等の検証を行う
- 2) 病原体の変化を迅速に検知するためのゲノムベースのサーベイランスの強化を図る

**行政施策への貢献:**

- 1) 共通の“物差し”で各国の病原体の比較解析が可能となり、各国の感染症対策に役立てられる。
- 2) アジアのCDC様機能を持つ国立研究機関との相互交流は、お互いの国で発生する感染症および病原体の情報を迅速に交換し、各国レベルでの感染症制圧への協力的体制を構築するために大きな貢献をする。

## 平成21年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：輸入感染症としての多剤耐性結核の対策・制御に関する研究

課題番号：H20-新興-一般-014

研究代表者：岡田 全司

**I. 研究の意義**

- (1) 近年、輸入感染症としての多剤耐性結核が問題。①日本国内への流入・蔓延防止 ②日本の外国人結核年々増加 ③費用莫大。治療困難。新結核ワクチン、治療薬必要。
- (2) 日本における外国人結核の発生と治療の実態把握及び対策・制御。
- (3) 多剤耐性結核の多数発症が日本・世界(特にアジア地域)で大問題。有効な治療法なし。
- (4) HIV、多剤耐性結核増加はDOTS戦略変更、DOTSプラス新治療剤、ワクチン開発必要。
- (5) BCGに代わる結核ワクチンは欧米でも臨床応用に未だ至らず。BCGは成人には無効。
- (6) 多剤耐性結核菌に対する宿主側の防御機構と菌側の要因との両面からの解明が切望。

**II. 研究の目的、期待される成果**

- (1) 日本における外国人結核の発生と治療実態把握及び対策・制御による結核の日本国内への流入・蔓延防止の成果。国際医療センター・国立病院機構呼吸器ネットワーク・保健所・結研の全国レベル研究(情報収集)で早期予防・治療ガイドライン作成の対策の成果。
- (2) 日本語学校、外国人雇用事業所で、早期発見の定期健診(QFT)を実施し、成果が期待。
- (3) アジア諸国との研究ネットワークを活用し、結核の分子疫学と宿主要因研究。外国人結核が多い(母国)中国・韓国の結核情報(日本の結核への影響)で日本への結核流入防止。
- (4) 新しい結核予防ワクチン(BCGより1万倍強力なHsp65+IL-12DNAワクチン)で結核制御
- (5) 結核治療ワクチン、新化学療法剤の開発。アジアの多剤耐性結核、XDR-TB制御成果。
- (6) スーパー・スプレッダー(S・S)多剤耐性及び超薬剤耐性結核(XDR-TB)対策。低医療費。
- (7) 先進諸国の移民結核対策の調査により、有効な移民結核対策・制御の成果が期待。

**III. 2年間の研究成果****・研究代表者**

- (1) 日本全国:下内、小林、豊田、星野、加藤と改訂を繰り返し、岡田が調査票(外国人結核及び入国者結核)を当班で作成した。これを全国保健所527施設、国立病院機構施設54施設を含む結核病床を有する病院273施設、合計800施設に送付した。現在、集計中で2006年~2008年の1000例の対象者を解析。日本における外国人結核は20代、中国、フィリピン、韓国、インドネシア、ブラジル国籍の順、来日1~3年発症多し。多剤耐性結核は4.7%、XDR-TBも存在。学生13%、常勤者32%。糖尿病合併44%、HIV合併1.2%。患者管理上の問題として言語の壁や治療途中の帰国割合が高いこと。(岡田)
- (2) 先進国、米国サンフランシスコの調査(公衆衛生局 Dr. Kawamuraと)で外国人移民結核(特に中国から)が多く問題。ツ反からQFT診断に変えてから外国人結核減少。(岡田)
- (3) 日本全国:結核発生動向調査を分析。外国人労働者、学生、日本人配偶者、不法在留者の人数が外国人結核患者数に影響。脱落率と転出率の高さが課題。(星野、岡田)
- (4) 平20年神戸市内結核届出患者366名中外国人結核2.5%。(藤山、岡田)
- (5) 新結核治療ワクチン:ヒト結核感染に最も近いカニクイザルを用い、HVJ-エンベロープ(E)/HSP65+IL-12DNAワクチンが結核治療効果を発揮することを世界で初めて報告(岡田, Vaccine 2009)。XDR-TBに対しても治療効果。
- (6) このワクチンの動物実験による前臨床試験データ取得:一般毒性試験、安全性試験(中島、岡田)。①前臨床試験:a.薬効薬理試験。マウス、カニクイザル、SCID-PBL/huで薬効確立(予防+治療) b.安全性確認 c.安定(凍結乾燥)②GMP製造で臨床応用可能。
- (7) 結核菌殺傷蛋白 Granulysin(Gra)はキラーT細胞分化因子活性も有する発見。15キロダルトン Granulysin(特許取得)蛋白ワクチンは結核治療効果(Human Vaccine in press)。Graと上記DNAワクチンで結核治療相乗効果を得た。
- (8) 多剤耐性結核患者の迅速発見法(rpoB変異)を用い、多剤耐性結核患者迅速入院方法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制を構築した(鈴木、岡田等、結核2008)。107人に応用し、rpoB変異を発見し、迅速入院したうちの86%は後に多剤耐性結核が確定。



### ・研究分担者(小林信之)

- (1) 日本における外国人結核:東日本:国立国際医療センターの外国人結核 80名(うち入院38名)を解析(2007年1月~2009年5月)。結核患者全体の8.9%、20-30才、中国・韓国、入国後1年以内多し。欧州出身増加。空洞46%、喀痰塗抹陽性46%。薬剤耐性率9.6%で、以前に比し減少。治療中断例は、以前に比し少なく病院と保健所の連携、DOTSの徹底、通訳、パンフレット等の使用が治療脱落の防止に寄与示唆。
- (2) 外国人結核の結核菌 RFLP 解析。70%以上のクラスター形成より、特定の菌株が蔓延。

### ・研究分担者(豊田恵美子)

東日本:東京病院で診療55人(2004~2008年)の外国人結核解析。全結核の2.7%。高蔓延国から帰国の児童(外国生まれ)も多くQFT陽性(5.7%)も多し。QFT診断導入の方向。

### ・研究分担者(下内昭)

西日本:大阪市で在留外国人結核患者は過去3年間で94名。20代、中国、韓国籍、学生が多く大きな集団感染を引き起こした。日本語学校の定期健診必要。VNTR分析で一一致例なし。ユーラシア大陸型で、大阪市流行株の型なし。母国で感染例が多い。

### ・研究分担者(加藤誠也)

アジアでの感染伝播状況の解析。3カ国(日本、中国、韓国)の結核研究施設が分子疫学共同研究会。(1)IS6110遺伝子とVNTRのMST解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”(75%)。中国(上海、北京)、ロシアや欧米は“蔓延型”(90%)で、遺伝的背景は異なることを発見。(2)日本と韓国との比較:MST(minimum spanning tree)解析により韓国に特徴的なRD181陽性株(韓国の6割)はVNTRでB5グループに区分。B5には韓国株に特徴的なK-strain株が含まれる。日本の結核菌と区分可能。

・研究分担者(野内英樹) タイから日本への伝播の解析。RFLPでタイに特有な結核株(Nonthaburi株)発見。37%が北京株、11%がNonthaburi株。難治性結核でGra産生異常。

・研究分担者(櫻田紳策) タイのHIV陽性結核の宿主要因:IL-10の上昇により抑制的制御。

・研究分担者(服部俊夫) 中国・ハルピンの薬剤耐性結核:結核315株解析。S・S多剤耐性結核(12%)、XDR-TB解析。rpoB変異86.4%、KatG変異45.6%、gyrA変異34.1%。

・研究分担者(慶長直人) ベトナムの多剤耐性結核調査と宿主要因。(1)ベトナムの多剤耐性結核約5%で、都市部、結核既治療再排菌例に多い。(2)ホーチミン市結核レファランスセンター50例の細胞性免疫関連遺伝子の遺伝子多型頻度解析。

・研究分担者(竹田潔) 多剤耐性結核に対する自然免疫治療法:(1)TLRを介し産生されるリポカリン2の鉄の取り込みの抑制による結核菌増殖抑制を発見。(2)secretory leukocyte protease inhibitor(SLPI)が細胞膜の透過性を亢進させる結核菌の感染防御を発見。(3)リポカリン2DNA、SLPI DNAワクチン構築し上記ワクチンとの相乗効果解析中(岡田、竹田)。

・研究分担者(高鳥毛敏雄) 先進諸国における移民結核対策:(1)ロンドン、ニューヨークでは外国人結核患者が増加し、結核患者の75%と大問題。結核対策の中核組織調査。(移民、ホームレス等の分野に分け専門職員設置。)(2)医療者の相談支援体制の整備。

・研究分担者(坂谷光則) 発現効率が高いHVJ-E封入製剤調整。安全性・毒性検査。OPC67683(新結核治療剤)の臨床応用。

## IV. 22年度の課題

- (1) 日本における外国人結核の発生状況と診断・治療実態把握。当班の調査票(日本における外国人結核)等より詳細な実態調査解析を続け、外国人結核対策・ガイドライン作成。
- (2) 外国人結核の分子疫学解析(VNTR、RFLP等)。特定菌株が特定集団に蔓延を解明。
- (3) 入国時スクリーニング検査法、就業時健診徹底。各国言語パンフレット・服薬手帳配布。
- (4) 日本語学校、外国人雇用事業所で定期健診(QFT診断を含む)。結核健康教育。
- (5) 外国人結核の最多国、中国・韓国(韓国結核研、釜山国立大、北京結核・胸部研、上海医科大)とSupply(15)-VNTRに日本独自の4 lociを加えた19VNTRでMST解析。
- (6) アジア(中国、韓国、フィリピン、タイ)とXDR-TB、S・S多剤耐性結核の分子疫学解析。タイ・ベトナムでの宿主要因。免疫機能(Granulysin)、薬剤代謝酵素、免疫関連遺伝子。
- (7) 新しい結核ワクチンの開発。カニクイザル、SCID-PBL/hu、XDR-TB、S・S MDR-TBを用い結核治療効果。臨床応用を目指す。GLPレベル安全性・毒性試験。GMP製造。
- (8) これとGra、リポカリン2、SLPIを併用し相乗的治療ワクチン効果。化学療法剤と併用。
- (9) ロサンゼルス市の外国人結核対策調査。

## V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 外国人結核対策のためのガイドライン作成による行政施策貢献。
- (2) 日本の外国人結核の全国研究(情報収集)で早期予防、治療の対策の厚生行政に寄与。
- (3) 多数の外国人結核の診療や診療サポートをしている国立国際医療センター、国立病院機構、結研、保健所と共同で外国人結核の輸入感染防止により厚生行政に寄与。
- (4) アジア各国共通利用の VNTR システム構築。結核菌が由来した国の同定。
- (5) アジア諸国の分子疫学・宿主要因研究は日本への結核流入・蔓延防止の行政に寄与。
- (6) 結核ワクチンと新薬開発は多剤耐性結核や XDR-TB の医療費節減・行政施策に重要。
- (7) 結核治療ワクチンはアジア諸国に対する多剤耐性結核治療の行政施策貢献。国際貢献。
- (8) S・S MDR-TB の発見は結核病室の個室化等、重要な厚生行政施策にすでに寄与した。

## VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

### ・研究代表者(岡田全司)

- (1) Okada M(1 番目/21 人中), Nakajima T(3/21), Tan E.V, Sakatani M(21/21). : Novel prophylactic and therapeutic vaccine against Tuberculosis. *Vaccine*. 27:3267-3270,2009
- (2) Okada M, Kita Y.: Tuberculosis vaccine development. *Human Vaccine*. (in press)
- (3) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Iwamoto T, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Evaluation of the Inno-Lipa Mycobacteria v2 for Mycobacterial identification, *Kekkaku* 84:15-21,2009
- (4) Kobayashi K, Sugawara I, Okada M, Hussey G, Andersen P, Sadoff J C. :Research and development of vaccines against Tuberculosis. *Kekkaku*. 83:635-640, 2008.
- (5) Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M.: Evaluation of the discrepant Mycobacterium tuberculosis strains between any ordinary susceptibility testing and rpoB gene analysis by the line probe assay. *Kekkaku*. 83:577-583.2008
- (6) 岡田全司、小林信之、豊田恵美子、下内昭、加藤誠也、星野齊之. :調査票(外国人結核及び入国者結核)作成。(2009年5月28日)
- (7) 知的財産権の取得及び申請状況  
岡田全司、高森靖、安井正文. :「感染症治療剤 15K granulysin」特許 4149713 号(2008年)

### ・研究分担者(小林信之、豊田恵美子)

- (8) 鈴木学、小林信之(3/9)、豊田恵美子(9/9). : 当センターにおける外国人結核症患者の臨床的特徴の変遷。8年前との比較ならびに今後の対策に向けて。結核 83:661-666, 2008.

### ・研究分担者(加藤誠也)

- (9) 前田伸司、菅原勇、加藤誠也(5/5): 国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型(VNTR)分析システム—JATA(12)-VNTR 分析法の実際—, 結核. 83: 673-678, 2008
- (10) Murase Y, Sugawara I, Kato S(4/5).:Promising loci of variable numbers of tandem for typing Beijing family Mycobacterium tuberculosis. *J Med Microbiol*. 57:873-80, 2008.

### ・研究分担者(慶長直人、野内英樹、櫻田紳策)

- (11) Lien LT, Kobayashi N(3/15), Yanai H(4/15), Toyota E(5/15), Sakurada S(6/15), Keicho N(15/15). Prevalence and risk factors for tuberculosis infection among hospital workers in Hanoi, Viet Nam. *PLoS ONE* 4 (8): e6798, 2009.
- (12) Mahasirimongkol S, Yanai H(2/9), Keicho N(19/19).: Genome-wide SNP-based linkage analysis of tuberculosis in Thais. *Genes Immun* 10 (1): 77-83, 2009.

### ・研究分担者(竹田潔、下内昭、高鳥毛敏雄)

- (13) Saiga, H., Takeda, K.(12/12).: Lipocalin 2-dependent inhibition of mycobacterial growth in alveolar epithelium. *J. Immunol*. 181, 8521-8527 (2008).
- (14) Nishimura J, Takeda K(13/13).: Potent antimycobacterial activity of mouse secretory leukocyte protease inhibitor. *J. Immunol*. 180:4032-4039, 2008.
- (15) Atarashi, K., Takeda, K.(11/11): ATP drives lamina propria TH17 cell differentiation. *Nature* 455, 808-812 (2008).
- (16) Saito F, Takeda K(7/7).: Inefficient phagosome maturation in infant macrophages. *B. B. R. C*. 375:113-118, 2008.
- (17) 下内昭: 大阪市において多言語による健康教育資料を印刷する提言。接触者健診のためのリーフレットを多言語(英語、ハンガール、タガログ、ベトナム語)に翻訳することを提言した。(2008年)
- (18) Wada T, Shimouchi A(3/7).:High transmissibility of the modern Beijing Mycobacterium tuberculosis in homeless patients of Japan. *Tuberculosis* (89), 252-255, 2009
- (19) 加藤仁一、下内昭(6/7).: 大阪市における在留外国人の結核。日本公衆衛生学会、2009年10月
- (20) 高鳥毛敏雄: 低まん延国の結核対策の保健医療組織 米国、英国、独。結核 83:213, 2008.

### ・研究協力者(星野齊之、阿部千代治)(鈴木克洋、露口一成、中島俊洋は研究代表者の項も参照)

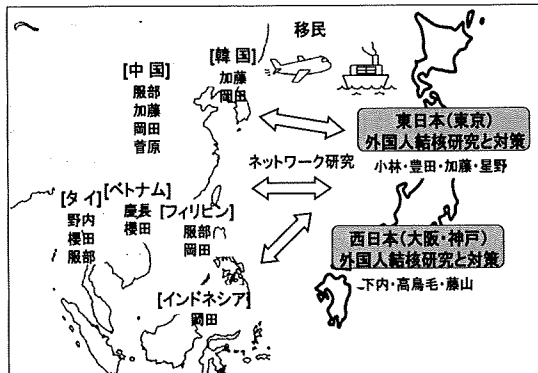
- (21) 星野齊之(1/4).: 在日外国人結核患者数の推移とその背景。結核 84:424, 2009
- (22) Abe C(1/11), Suzuki K(7/11), Ogata H. : Biological and molecular characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates with low-level resistance to Isoniazid in Japan. *J. Clin. Microbiol*. 46:2263-2268, 2008

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等

## 輸入感染症としての多剤耐性結核の対策・制御に関する研究

### 目的

(日本における外国人結核の対策・制御研究とアジア諸国の結核対策研究ネットワークの確立・活用による多剤耐性結核制御)



### 期待される効果

- ①対策の向上 ②診療の向上(新しい診断法, 新しい結核ワクチン・化学療法)
- ③日本の外国人結核減少 ④日本人結核患者減少(特に多剤耐性結核)
- ⑤アジア諸国の結核患者減少 ⑥医療費節減 ⑦国際貢献

### 日本

- アジア諸国の結核対策研究ネットワークの確立**  
岡田, 加藤, 野内, 服部, 慶長, 櫻田, 菅原
- 日本の外国人結核**  
岡田, 小林, 豊田, 下内, 星野, 加藤, 藤山, 高鳥毛, 竹田, 切替, 坂谷

### 研究方法

- ①日本の外国人結核の発生と治療の実態。(調査票)
- ②アジア諸国の結核菌分子疫学と宿主要因と対策。
- ③新しい診断法。
- ④新しい結核ワクチン・化学療法。
- ⑤先進諸国の移民結核対策調査。(高鳥毛, 岡田)

### 研究成果

#### 日本の外国人結核

1. 日本全国: 調査票(外国人結核及び入国者結核)を作製。保健所・病院800施設に配布。解析。20代、中国・フィリピン・韓国、入国3年以内多い。多剤耐性4.7%。(岡田)
2. 日本全国: 結核発生動向調査を分析。労働者、学生等が影響。(星野, 岡田)
3. 東日本: 国際医療センター及び東京病院。HIV陽性者6%。多剤耐性結核は5%。薬剤耐性の獲得は母国。特定の菌株蔓延。(小林, 豊田)
4. 西日本: 大阪市で在留外国人結核患者。学生が多く、集団感染。日本語学校の定期健診が必要。VNTR分析で大阪市流行株なし。母国で感染。(下内, 藤山, 岡田)

#### アジア諸国

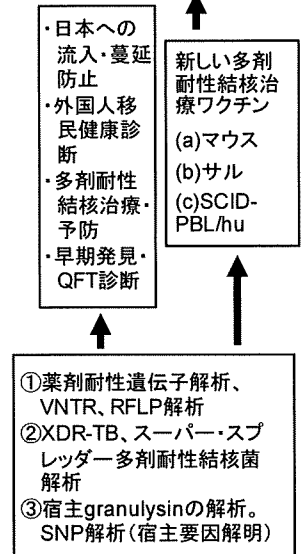
- [結核菌分子疫学研究と宿主要因解析(ネットワーク研究)]**
- (1)中国(加藤, 服部, 岡田, Ling, Heping)
    1. アジアでの感染伝播状況の解析。3カ国(日本、中国、韓国)の分子疫学共同研究会。VNTRのMST解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”。上海、ロシアや欧米は“蔓延型”で、遺伝的背景異なる発見。韓国株はRD181陽性で日本株とも分離可。(加藤)
    2. ハルビンの315株で薬剤耐性遺伝子解析。中国のSM耐性株研究(服部, 菅原)
  - (2)タイ(野内, 櫻田, Pathom)・タイから日本への伝播の解析。RFLPでタイ特有な結核株発見。難治性結核でGra産生異常。
  - (3)フィリピン(Tan, 岡田, 服部)・カニクイザルで結核治療ワクチン開発。
  - (4)ベトナム(慶長, Duong) 宿主要因解析。

#### 先進国の情報

先進国ロンドン・ニューヨーク・サンフランシスコの外国人結核75%。外国人結核減少にQFT有用。(高鳥毛, 岡田)

#### 新しい結核治療ワクチンの開発・迅速診断入院法の開発

- (1)多剤耐性結核に対する初めての治療ワクチンを発見(サルで)。XDR-TBに対して治療効果。(岡田)
- (2)BCGよりも1万倍強力な結核予防ワクチン。カニクイザル(レオナルド研究所; ヒト結核感染に最も近い)で100%生存率の予防効果(BCGは33%)。前臨床試験データを取得(毒性・安全性試験)
- (3)Granulysin(Gra)のキラーT分化因子活性発見。Graワクチンは結核治療効果。(岡田) GraTgマウスでGraが結核菌殺傷に関与。
- (4)リポカリン2はTLRを介し結核菌増殖抑制。SLPIIによる結核菌殺菌機構(細胞膜透過性亢進)解明。(竹田)
- (5)多剤耐性結核患者迅速発見法(rpoBの変異)を用いて、多剤耐性結核患者の迅速入院方法・体制を構築。(鈴木, 岡田)



(倫理委員会)

ワクチン	マウス	モルモット	カニクイザル	ヒト
HVJエンベロープ/HSP65 DNA + IL-12 DNA	BCGより1万倍強力な予防ワクチン効果	効果	効果	計画中
	結核治療ワクチン効果	計画	効果	計画中
	強力な多剤耐性結核・XDR-TB治療効果	計画	計画	

**○研究代表者の研究歴等****・過去に所属した研究機関の履歴**

1973年4月 大阪大学大学院医学研究科(第三内科学)博士課程入学(指導山村雄一元教授、岸本忠三前教授)  
 1977年3月 大阪大学大学院医学研究科(第三内科学)博士課程修了 医博  
 1978年7月 アメリカ合衆国、University of Washington, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Basic Immunology Program, Research Fellow (Christopher S. Henney 教授、Steven Gillis 助教授)  
 1992年9月 大阪大学医学部内科学第三講座・学内講師  
 1993年1月 九州大学生体防御医学研究所 臨床遺伝学部門助教授  
 1998年5月 財団法人結核予防会大阪府支部大阪病院副院長  
 1998年10月 国立療養所近畿中央病院 臨床研究部部長  
 2005年4月 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター 研究センター長 (2006年4月～現在) 大阪大学大学院(医学研究科)連携大学院 招へい教授

**・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)**

大阪大学時

大阪大学: 岸本忠三(元総長)・山村雄一(元総長)・審良静男・平野俊夫教授、東京大学: 吉田進昭教授

九州大学時

ハーバード大: R.C. Mulligan 教授、NIH: S.A. Rosenberg 博士・G.J. Nabel 教授、ノース・カロライナ大: O. Smithies 教授、Corixa 研: S. Gillis 所長、ミュンヘン工科大: G. Gansbacher 教授、東京大: 斉藤泉教授、岩倉洋一郎教授、大阪大: 岸本忠三元総長・辻本賀英教授、九州大: 秋吉毅教授、森正樹教授、実中研: 野村達次所長、中外研: 大杉義征所長

近畿中央胸部疾患センター時

(結核)長崎大: 野内英樹・山田毅教授、東北大: 服部俊夫教授、レオナルド・ウッド研究所: E. Tan 部長、R. Gelber 所長、P. Saunderson 所長、中国: H. Ling 教授、Corixa 研: S. Reed 副所長、マヒドン大: S. Khusmith 副学長、Texas 大: D. N. McMurray 教授、ハーバード大: R.C. Mulligan 教授・J-S Lee 博士、S.M. Behar 講師、結核予防会: 螺良英郎院長、大阪大: 金田安史・審良静男・高鳥毛敏雄・竹田潔教授、自治医大: 吉田栄人准教授、浜松医大: 小出幸夫教授、大塚製薬: 松本真所長、結核研究所: 加藤副所長、下内昭副所長、国際医療センター: 小林信之医長、慶長直人部長

(SARS)大阪公衛研: 奥野良信部長、香港大: J.S.M. Peiris 教授、国立感染研: 田代真人センター長、山本直樹センター長

**・主な研究課題**

- (1) 「輸入感染症としての多剤耐性結核の対策・制御に関する研究」(平 20-)厚労科研(研究代表者)
- (2) 「アジア地域との研究ネットワークの活用による多剤耐性結核の制御」(平 17-19)厚労科研(主任研究者)
- (3) 「結核菌症の病態解明に基づく新たな治療法等の開発に関する研究」厚労科研(平 14-16)(主任研究者)  
BCGに代わる新しい結核ワクチンの開発研究。新しい結核感染特異的診断法開発。
- (4) 「抗結核キラーTとrBCG-DNA-ワクチンの開発による新しい予防・診断・治療法」(平 11-13)厚労科研(主任研究者)
- (5) 「SARS ウイルスに対するDNA ワクチンの開発」科学技術新興調整(分担研究)、文部科研・特定領域(主任研究者)(平 15-17)
- (6) 「サイトカイン遺伝子導入と遺伝子欠損モデルを用いたヒト癌・遺伝子治療の国際調査研究」平 8~9 年度 文部科研・国際学術研究ーがん特別調査研究。(主任研究者)  
「サイトカイン遺伝子導入・欠損と SCID マウスを用いた抗腫瘍効果」平 6-8 年 文部科研・重点領域がん重点“がん治療”計画研究、平 3~5 年重点領域“バイオサイエンスの進展に基づくがんの重点研究”(バイオがん)。(主任研究者)  
「IL-6による抗腫瘍活性及びIL-6と異なるキラーT分化因子(ヒトT細胞ハイブリドーマ由来)の遺伝子クローニング」昭 60 年~平 2 年度 文部科研「がん」特別研究(主任研究者)